

分取クロマトグラフィーの応用(その2)

Application Data of Preparative Liquid Chromatography (No.2)

ニンジン抽出物中β-カロチンのリサイクル分取

Recycle Preparation of β-Carotene in Extracts from Carrot

β-カロチンは、ニンジン、カボチャ、トマト等に多く含まれる赤色の成分であり、またビタミンA前駆体として重要な栄養素です。今回は、ニンジン抽出液中のβ-カロチンの分取に際し、リサイクル分離を試みました。さらに、リサイクルの効果をフォトダイオードアレイ検出器によっても確認しました。

リサイクル分離について——分取用カラムはサイズが大きいほど高価なものになりますので、通常はあまり高分離を期待できない長さのカラムを使うケースが多くなります。このようなとき、カラムから溶出した目的成分を含む溶出液バンドをカラム入口部に再度導入することによって、カラム長さを長くしたかのような分離効果

を得ることができます。これをリサイクル分離といい、繰り返し行うことにより効果が高まります。

Fig.1にリサイクルの流路図を示しました。リサイクルバルブを切換えることにより、フラクションコレクタへと続くflow out流路と、ポンプ入口へと続くrecycle流路を選択することができます。リサイクル状態には、流路は閉じた循環系となり、新しい移動相の消費は行われません。なお、ポンプ自体の内容積や配管容積等のカラム外容積が大きいと成分バンドが広がってしまうため、できる限り小さくしておくことがポイントになります。

β-カロチンのリサイクル分取——β-カロチンは、吸着・順相モードでも保持されますが、ここでは汎用的な逆相モードを用いた例を紹介いたします。Table1に分析条件を、Table2に試料の前処理を示しました。

本条件下でβ-カロチンは、保持時間約18分で溶出しましたが、ピーク形状の非対称性から夾雑成分の重なりが予想されました。そこで、リサイクルを行い、夾雑成分との分離を試みました。得られたクロマトグラムをFig.4に示します。1成分のみと見誤りそうなピークから、3成分へと見事に分離されていくのがわかります。

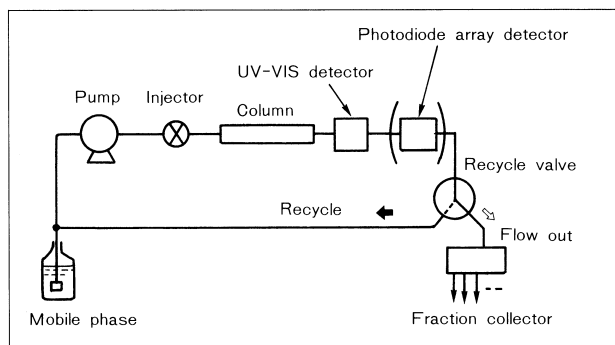
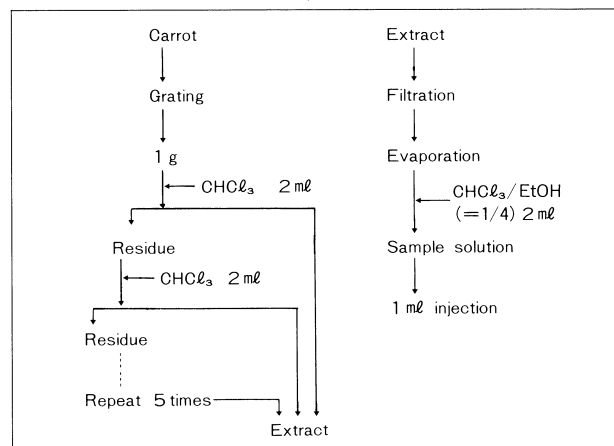


Fig. 1 リサイクル流路図
Recycle Flow System

Table 1 分析条件
Analytical Conditions

Instrument	: LC-8A System
Column	: Shim-pack PREP-ODS (H) kit (20mm I.D. × 250mm L.)
Mobile Phase	: Ethanol (99.5%)
Flow Rate	: 10 ml/min
Column Temp.	: Room Temp. (26°C)
Detection	: Absorbance at 480nm using 0.5mm L. prep-cell
Monitor with Photodiode Array Detector	: SPD-M6A, 195-600nm Sampling period 2sec

Table 2 試料前処理
Sample Pretreatment



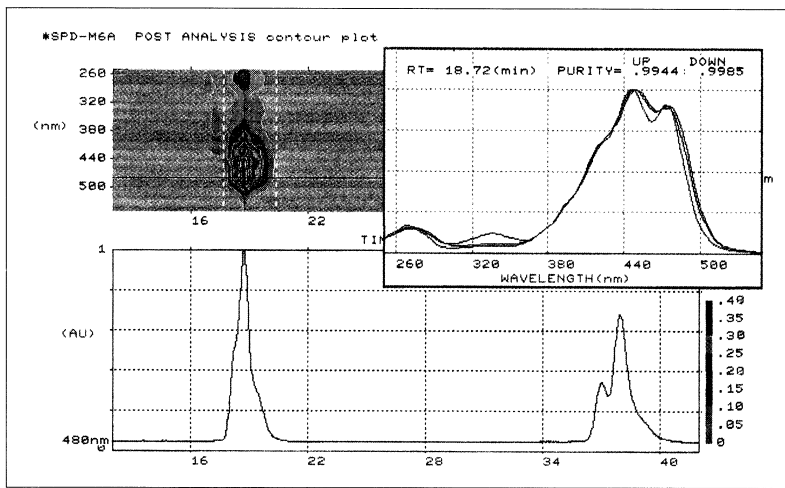


Fig.2 1サイクル目の等高線プロット, および純度チェック
Contour Plot and Purity Check at First Cycle

今回はさらに、UV検出器とリサイクルバルブの間にフォトダイオードアレイ検出器SPD-M6Aを接続して、リサイクル1回目 (Fig.2) と6回目 (Fig.3) の β -カロチンピークのスペクトルを調べてみました。480nm単一波長だけではピークの純度予測が困難でしたが、等高線プロット, およびピーク頂点と前後のスペクトル比較による純度チェックを行うことにより、リサイクル精製過程が詳しく理解できます。本検出器で精製確認後分取を行う方法は、非常に有用といえましょう。なお、標準物質スペクトルとの比較により、 α -、 β -カロチンピークの定性を行いました。

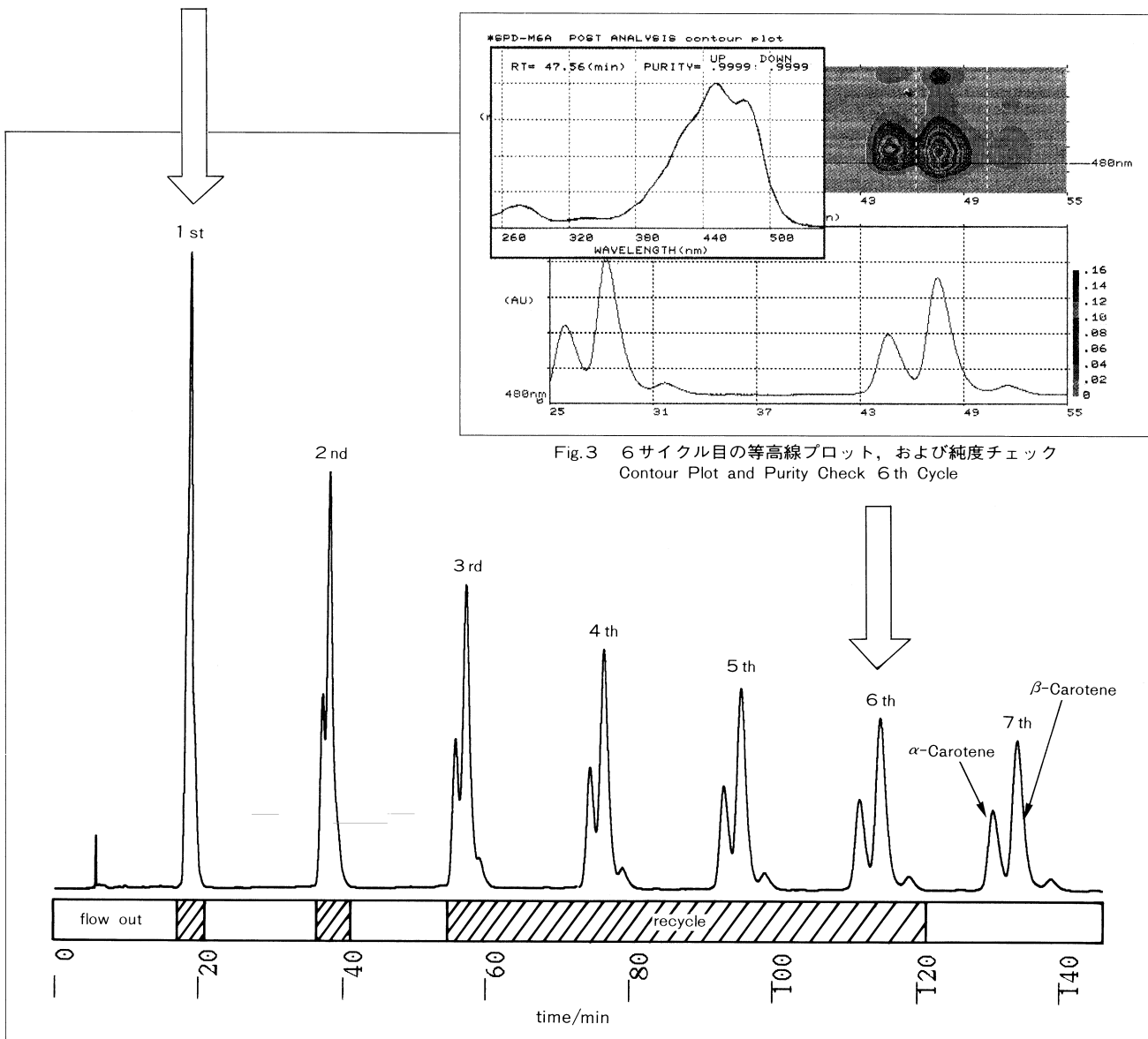


Fig.3 6サイクル目の等高線プロット, および純度チェック
Contour Plot and Purity Check 6th Cycle

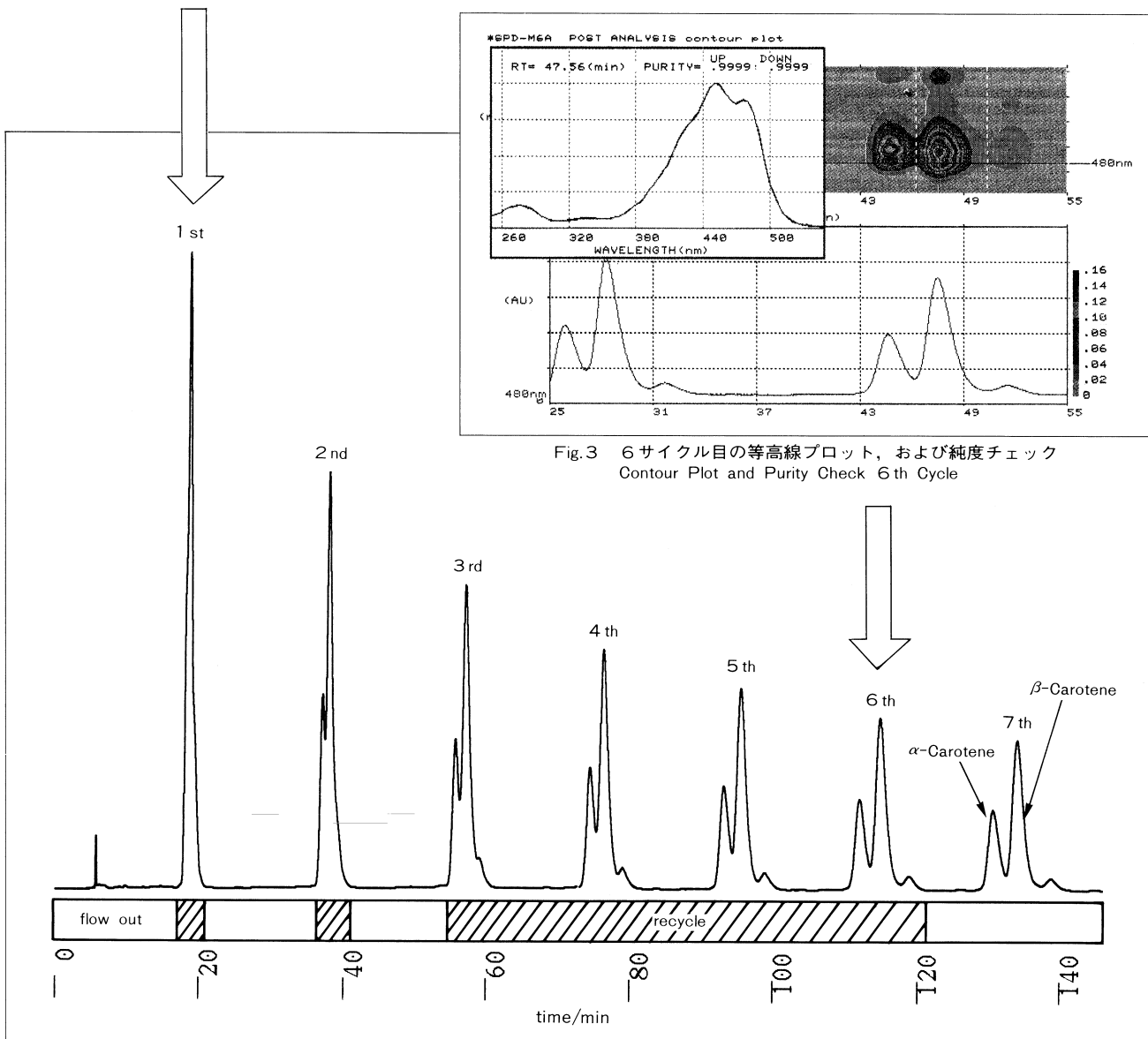


Fig.4 ニンジン抽出物中 β -カロチンのリサイクル分離過程
Recycle Process of β -Carotene in Extraction from Carrot

初版発行：1988年9月
A改訂版発行：2006年7月

島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

☎ 0120-131691(携帯電話不可)
● 携帯電話専用番号(075)813-1691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。